УДК 636.085.12; 636:612.014.482; 636.2.084.52

Д.С. Берестов, Е.А. Мерзлякова, Е.И. Трошин
ФГОУ ВПО Ижевская ГСХА

АНТИОКСИДАНТНЫЙ ЭФФЕКТ ДАФС-25 ПРИ ОТКОРМЕ БЫЧКОВ И В ПРОФИЛАКТИКЕ ПОСЛЕДСТВИЙ ЛУЧЕВОГО ВОЗДЕЙСТВИЯ

Одной из проблем Удмуртской Республики при ведении животноводства, как известно, является низкий естественный уровень селена в почвах и кормах. Для профилактики селеновой недостаточности у животных разработано и применяется на практике множество препаратов, содержащих этот микроэлемент. В том числе в последние несколько лет в практику активно внедряются препараты селена на органической основе, позволяющие значительно снизить риск развития интоксикации по сравнению с селенитом натрия и повысить биодоступность селена для организма животных. Одним из таких соединений является 1,5-дифенил-3-селенапентадион-1,5 (ДАФС-25). Его положительное влияние на физиологические функции организма животных отмечено во многих работах [1, 2, 3 и др.], однако комплексных исследований собственно антиоксидантной активности препарата в доступной литературе нами не обнаружено. В связи с этим было проведено комплексное исследование целями которого являлось: изучение влияния препарата ДАФС-25 в различных дозах на продуктивные показатели бычков при откорме; исследование микроструктуры органов и активности ферментов; создание экспериментальной модели на лабораторных животных (крысы, кролики), подтверждающей антиоксидантные свойства препарата в условиях общего γ-облучения организма.

Материалы и методы исследования

Для изучения влияния препарата ДАФС-25 на продуктивность животных были сформированы три группы откормочного поголовья КРС аналогичные по возрасту и живой массе по десять бычков в каждой. Все животные содержались на хозяйственном рационе. Бычкам первой опытной группы в/м вводили стерильный масляный раствор ДАФС-25 из расчета 0,1 мг/кг массы тела. Во второй опытной группе тот же раствор, но 0,2 мг/кг массы. Инъекции проводили двукратно через тридцать дней. Третья группа служила контролем. Для чистоты эксперимента животным контрольной группы в/м вводили чистый стерильный масляный раствор с той же кратностью и в том же объеме. Через два месяца производился убой животных с изъятием опроб органов для гистологического и гистохимического исследований с применением общегистологических методик, а так же гистохимических реакций на обнаружение неспецифических кислых фосфатаз по методу Гомори, определение АТФ-азной активности с солями свинца по Гомори и специфической реакций на липиды суданом III. Для выявления радиопротекторных свойств, препарат за две недели до лучевого воздействия парэнтерально вводился кроликам и крысам двукратно с интервалом в одну неделю. Облучение проводилось во ВНИВИ (г. Казань) на гамма-установке ГУБ-20 «Пума». Экспозиционная доза γ-излучения составила для крыс 650 Р, для кроликов 400Р. После облучения проводилось морфо-функциональное исследование центральных систем управления движения путем изучения структуры и энергетической активности моторной зоны коры больших полушарий методами Нахласа [4] и Ниссля, общей двигательной и поведенченской активности животных методом «открытое поле», экспрессии нейроспецифических белков непрямым пероксидазным иммуногистохимическим методом для оценки скорости репаративных процессов.

Результаты, полученные в ходе проделанной работы подтверждают данные других исследователей о росте продуктивности животных при применении препарата. В частности за время эксперимента прирост живой массы бычков контрольной группы составил 15,25%, в то время как в первой и второй опытной группах 15,49% и 16,99% соответственно. Увеличение прироста именно за счет введения препарата подтверждают равные условия эксперимента для бычков всех групп. В контрольной группе срезы печени бычков при окраске суданом III имели неравномерное окрашивание, от бледно-желтого до желто-коричневого. Окраска гематоксилин-эозином позволила выявить в цитоплазме этих клеток крупные вакуоли, ядра при этом смещались к цитолемме, что говорит о накоплении липидов данными клетками. В части печеночных клеток было отмечено уменьше-

ние объема как самой клетки так и ее ядра, в некоторых ядра происходило увеличение гетерохроматина и уплотнение ядрышек. На основании этого можно предположить, что данные гепатоциты подвергаются дегенеративным изменениям. При гистохимической реакции на накопление жиров печенью бычков первой опытной группы выявлены отличие от контрольной группы. В данном случае окраска равномерная бледно-желтая по всей площади среза.

Во второй опытной группе, где доза ДАФС-25 составляла 0,2 мг/кг массы тела бычков, реакция на жиры в тканях печени животных дала следующие результаты: окраска равномерная бледно-желтая, лишь в некоторых гепатоцитах внутри дольки реакция на жиры несколько выше общего фона, что вписывается в рамки функциональной активности печеночных клеток. Общая структура печени не нарушена.

Исследование почек животных контрольной группы позволило выявить расширение полости капсулы клубочка. С помощью судана III в базальной части эпителиальных клеток проксимальных канальцев почек были обнаружены мелкие ярко-желтые включения, что позволяет предположить возможность всасывания жиров эпителиоцитами (рис. 1). Эпителий дистальных канальцев имеет равномерное светло-желтое окрашивание. Почки бычков первой и второй опытных групп имели типичную структурную организацию. Реакция на накопление липидов отрицательная.

Изучение гистохимической реакции на содержание жиров в скелетной мышечной ткани животных опытных группах показало отсутствие их накопления в волокнах, что подтверждается однородной светло-желтой окраской. На поперечном срезе в эндомизии и перимизии группами или одиночно лежат жировые клетки, отличающиеся ярко-оранжевой окраской (рис. 2). Общая гистологическая структура мышечной ткани не нарушена. Аналогичная картина микроархитектоники была у восьми животных контрольной группы. Интерес вызвали препараты взятые от двух бычков этой группы. Окраска суданом показала наличие в структуре мышечного волокна ярко желтых участков, т.е. зон с интенсивным накоплением липидов. Исследование миокарда выявило тенденции к увеличению общего содержания липидов в данной мышце у животных контрольной и первой опытной групп. На это указывает равномерная интенсивная окраска суданом. В противоположность этому кардиомиоциты на препаратах второй опытной группы имеют бледно-желтое окрашивание, в зонах соответствующих соединительнотканным элементам, почти бесцветное, что указывает на отсутствие накопления жиров сердечной мышцей.

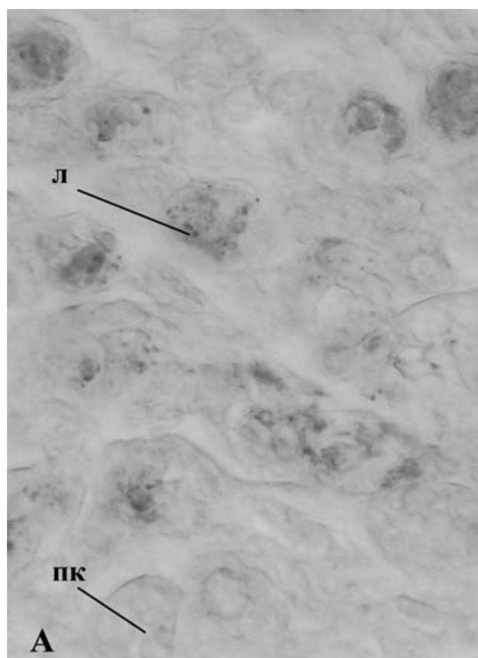




Рисунок 1. Липиды в проксимальных канальцах почек. Окраска суданом III. А – контроль, Б – после введения ДАФС-25. л – липидные включения, пк – проксимальный каналец

Исследование выявило различия в АТФ-азной активности и активности кислых фосфатаз по группам животных. При исследовании миокарда наибольшая АТФ-азная активность выявлена у бычков второй опытной группы, так же как и при исследовании печени. А интенсивность гистохимической реакции на кислую фосфатазу в отдельных зонах печени, соответствующих местам локализации Купферовских клеток, у животных первой и второй групп была выше контрольной.

Применение препаратов селена при лучевом воздействии продиктовано свойствами селенсодержащих ферментов, блокирующих образование свободных радикалов [5, 6], которые в большом количестве образуются именно при воздействии ионизирующего облучения. Эксперимент на лабораторных животных показал, что при предварительном введении препарата ДАФС-25 общая двигательная активность, оцененная по данным «открытого поля» при развитии лучевой болезни снижается значительно меньше. При этом из пяти определяемых в тесте параметров наиболее показательным был общий «пробег» животных по арене за время теста (рис. 3), оцениваемый по количеству пройденных секторов. В частности применение препарата позволило удержать на относительно высоком уровне общую подвижность животных через 2, 12 и 16 суток после лучевого воздействия. Отсутствие статистически достоверных различий между интактными животными и группой необлученных животных, получавших препарат, говорит об отсутствии проявления токсического действия изучаемого соединения.

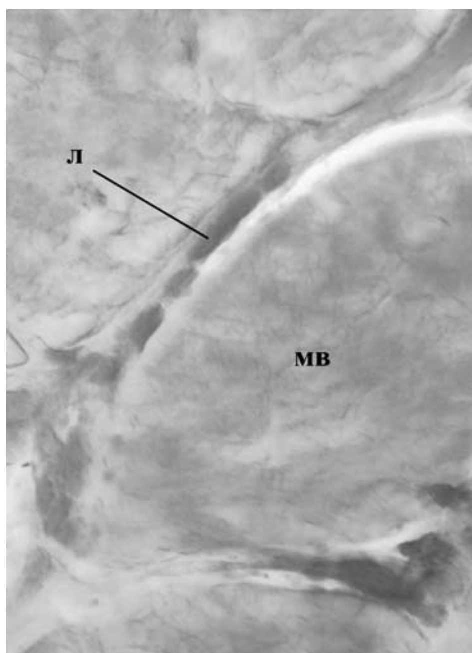


Рисунок 2. Скелетная мускулатура бычка опытной группы. Судан III. л – липоциты, мв – мышечное волокно

Динамика показателей общей моторной активности неизбежно сопровождается сдвигами и в центральных механизмах управления движениями. После общего γ-облучения в моторной коре больших полушарий кроликов и крыс, не получавших препарат ДАФС-25 нами зафиксировано существенное понижение интенсивности аэробного окисления, определенное по активности фермента сукцинатдегидрогеназы (СДГ) в методе Нахласа, в том числе в пирамидных нейронах ганглионарного слоя, аксоны которых входят в со-

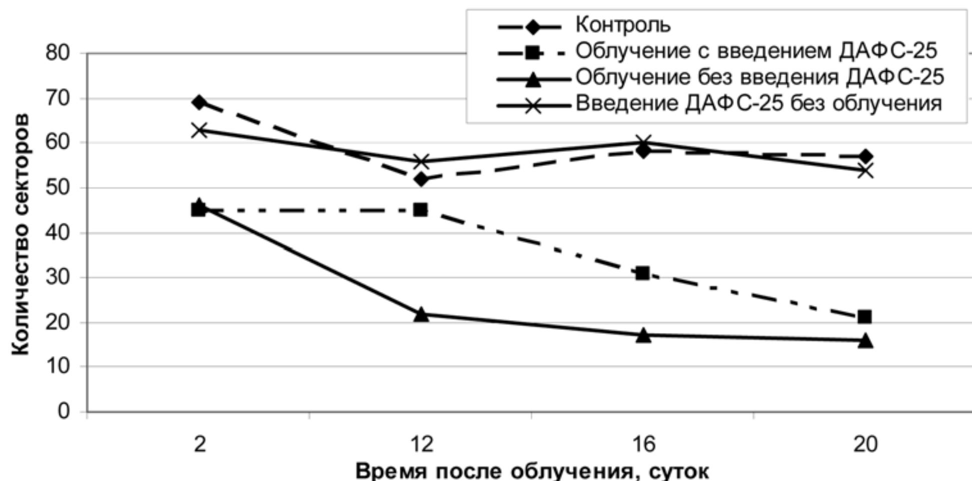


Рисунок 3. Количество секторов, проходимое крысами в «открытом поле» в разное время после лучевого воздействия

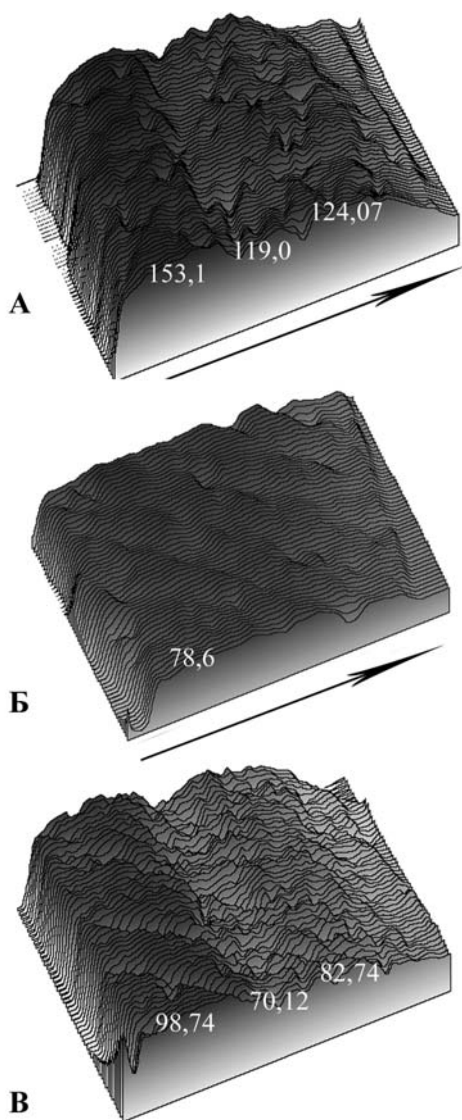


Рисунок 4. Кривая распределения активности СДГ в моторной коре кроликов. 2 суток после облучения. А – контроль, Б – облучение без предварительного введения ДАФС-25, В – облучение с предварительным введением ДАФС-25. Стрелка – направление построения кривой от молекулярного слоя к белому веществу. Числовое значение – оптическая плотность восстановленного нитросинего тетразолия в методе Нахласа (активность СДГ)

став пирамидного тракта. Применение перед облучением кроликов и крыс препарата ДАФС-25 сопровождалось значительно меньшим снижением активности фермента в моторной коре по сравнению с контролем (рис. 4). Интересным представляется тот факт, что через двое суток после облучения в соматосенсорном отделе коры в отличие от моторного, у животных, не получавших ДАФС-25, активность СДГ не снижалась, а существенно повышалась, что может быть объяснено массивной неспецифической афферентацией с периферических органов и тканей после облучения. Применение препарата позволило сгладить подобные изменения и получить менее выраженный подъем интенсивности аэробного окисления в нейронах соматосенсорной коры кроликов и крыс.

Наличие радиопротекторных свойств у препарата ДАФС-25 подтверждают и результаты проведенных нами гистологических исследований изучаемых областей мозга с помощью методик Ниссля и Гольджи. В частности, у крыс и кроликов, облученных с предварительным введением ДАФС-25 обнаруживалось меньшее количество нейронов с признаками вакуолизации и дегенерации, объем вакуолей был значительно ниже, в меньшей степени претерпевали такие изменения пирамидных нейронов ганглионарного слоя, как ядерно-цитоплазматическое отношение, площадь поперечного сечения нейронов в срезе. Применение препарата позволило сократить и степень глиальной реакции, что проявилось менее резким изменением нейро-глиального индекса. При изучении экспрессии белков GFAP (глиальный фибриллярный кислый белок) и S100β непрямым пероксидазным иммуногистохимическим методом с применением моноклональных антител производства Dako, в мозге облученных животных, не получавших препарат, регистрировалось снижение их выявляемости с появлением сильной неравномерности распределения. Через 20 суток после облучения показатели выравнивались с контрольными, однако в сенсомоторной коре оставались области с высокой активностью указанных маркеров. В областях мозга облученных животных, предварительно получавших ДАФС-25 нарушение экспрессии указанных белков прослеживалось в меньшей степени. Кроме того, в сенсомоторной коре появлялись отдельные нейроны и глиоциты с высокой активностью белка S100β, что говорит об активных репаративных процессах.

Таким образом, на основании проведенной работы можно сделать следующие выводы:

1. Применение ДАФС-25 позволяет восполнить селеновую недостаточность у животных и увеличить прирост живой массы бычков при откорме.

2. В применяемых дозах препарат позволяет предотвратить излишнее накопле-

ние липидов в тканях печени и поперечно – полосатой мышечной ткани.

3. Препарат оказывает радиопротекторное действие при двукратном предварительном введении за две недели до общего γ-облучения.

4. Радиопротекторное действие в системе управления движениями сглаживает последствия лучевого воздействия на сенсомоторную кору, что проявляется меньшим падением общей двигательной и исследовательской активности животных, меньшим объемом органических нарушений в указанной области мозга и более высокой склонностью к репаративным процессам.

РЕЗЮМЕ

Исследованы антиоксидантные свойства селенорганического препарата ДАФС-25 при откорме бычков и его радиопротекторный эффект при общем γ-облучении. Применены современные гистохимические и иммуногистохимические методики, проведен эксперимент в лабораторных и производственных условиях, подтверждающий эффективность препарата.

SUMMARY

Antioxidant effect of DAFS-25 and its effect in ox feeding was investigated. Modern methods that used some experiments that made in the lab and in the foam confirm the effectiveness of DAFS-25.

Литература

1. Т.Н. Родионова, В.Ю. Васильев, Л.И. Ульихина. Селенорганический препарат ДАФС-25 в кормлении кроликов. Зоотехния. 2001. № 3. С. 19-20.
2. Б.И. Древко и др. Исследование влияния препарата ДАФС-25 на активность лактатдегидрогеназы // Тезисы докладов 2 Научно-практической конференции «Научно-технические аспекты обеспечения безопасности при уничтожении, хранении и транспортировке химического оружия». М. 2004. С. 117–118.
3. А.А. Ермаков. Биогеохимия селена и его значение в профилактике эндемических заболеваний человека // Вестник отделения наук о земле РАН. 2004. № 1. С. 2–7.
4. G.G. Guilbault. Handbook of enzymatic methods of analysis. N.-Y.: Marcel Dekker. 1976. 300 p.
5. J. Loflin et al. Selenoprotein W during development and oxidative stress // J. Inorg. Biochem. 2006. № 10. P. 79–84.
6. H. Steinbrenner et al. Selenoprotein P protects endothelial cells from oxidative damage by stimulation of glutathione peroxidase expression and activity // Free Radic. Res. 2006. № 40. P. 36–43.

УДК 619.616.98:578.835.2-085.37

Ясер Вазир, Р.В. Белоусова, Г.И. Устинова, О.Д. Кучерук

ФГОУ ФПО МГАВМиБ им. Скрябина, ГНУ ВНИИ экспериментальной ветеринарии им. Я.Р. Коваленко (ВИЭВ)

ИСПЫТАНИЕ БИВАЛЕНТНОЙ ВАКЦИНЫ ПРОТИВ АДЕНОВИРУСНОЙ ИНФЕКЦИИ И ВИРУСНОЙ ДИАРЕИ КРУПНОГО РОГАТОГО СКОТА НА КРОЛИКАХ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ИММУНОМОДУЛЯТОРОВ

Вирусные респираторно-кишечные болезни молодняка крупного рогатого скота регистрируются не только как заболевания незаразной этиологии, но и более 50% из них имеют инфекционную природу. До сих пор они наносят значительный экономический ущерб животноводству и являются главной проблемой ветеринарной науки и практики.

Одним из основных средств профилактики инфекционных заболеваний является вакцинация. Однако, несмотря на обилие вакцинных препаратов и их применение, искоренить многие инфекции пока не удалось, и причин тому много: сочетанное участие в инфекционном процессе вирусных и бактериальных возбудителей, неблагоприятные экологические и хозяйственные факторы, способствующие значительным нарушениям функциональной активности иммунной системы животных и приводящие к осложнениям основного заболевания (Пронин А.В.,2005; Сисягин П.Н., Реджепова Г.Р. с соавт., 2005; Федоров Ю.Н., 2005).

В связи с этим в последние годы большое внимание уделяют разработке и использованию иммуномодуляторов для устранения иммунодефицитов и активизации поствакцинального иммунитета. Вклю-